

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平11-513042

(43) 公表日 平成11年(1999)11月9日

(51) Int.Cl.⁶
C 07 C 62/32
B 01 D 1/00
C 07 C 51/48
C 11 C 1/00
C 11 B 1/10

識別記号

F I
C 07 C 62/32
B 01 D 1/00
C 07 C 51/48
C 11 C 1/00
C 11 B 1/10

Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求(全 12 頁)

(21) 出願番号 特願平10-508532
(86) (22) 出願日 平成9年(1997)7月24日
(85) 翻訳文提出日 平成10年(1998)3月23日
(86) 国際出願番号 PCT/ES97/00190
(87) 国際公開番号 WO98/04331
(87) 国際公開日 平成10年(1998)2月5日
(31) 優先権主張番号 P 9 6 0 1 6 5 2
(32) 優先日 1996年7月25日
(33) 優先権主張国 スペイン(ES)
(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), CA, IL, JP, US

(71) 出願人 ウニバーシダード・デ・グラナダ
スペイン国、エー-18071 グラナダ、サンタ・ルチア、2-2 アー ブランタ
(72) 発明者 グラシアーグラナドス・ロベス・デ・イエロー・アンドレス
スペイン国、エー-18071 グラナダ、ドブト・キミカ・オルヤニカ、ファクルタード・デ・シェンシアス
(74) 代理人 弁理士 江崎 光史 (外2名)

(54) 【発明の名称】 オリーブ摩碎副生成物に含まれるオレアノール酸およびマスリン酸を工業的に回収する方法

(57) 【要約】

三段階または二段階圧縮で進められる、オリーブまたはそれの一部の摩碎および加工工程で得られる副生成物中に含まれるオレアノール酸およびマスリン酸を回収する方法。この方法では、80%以上の純度で、加工される物質および一次物質を基準として0.2~1.5%の収率で両方の酸を得ることが可能である。基本的には、この方法は選択的抽出および得られる混合物の溶剤使用下での分別処理を含む。

【特許請求の範囲】

- 1) オリーブ全体またはそれ的一部の摩碎残留物から、オイルミル圧搾物で生成したオイルケーキ状物、三段階圧搾物からのくずおよび“二段階”システムとして知られる方法でオリーブから油を抽出して得られるオイルフットくずから $3-\beta$ -ヒドロキシ-28-カルボキシオレアネン(オレアノール)酸、 $2-\alpha$ 、 $3-\beta$ -ジヒドロキシ-28-カルボキシオレアネン(マスリン)酸および副生成物を得る方法において、これらの両方の酸を液化ガス抽出を含めた選択的な抽出および/または溶剤での付随生成物の除去によって80%を超える純度で別々に分離することを特徴とする、上記方法。
- 2) (主成分の)オレアノール酸およびマスリン酸および副生成物を得る請求項1に記載の方法において、摩碎残留物(例えば、水または他の溶剤またはそれらの混合物で希釈され、濾過されおよび/またはデカンテーションされおよび/または遠心分離され、これら固液分離段階から場合によっては得られる全ての相の一部のまたは全部の乾燥物)を、他の溶剤で前もって抽出処理してまたはせずに抽出処理、好ましくはヘキサン、他の非極性溶剤またはそれらの混合物で、またはオレアノール酸-および/またはマスリン酸溶剤での還流抽出処理に付すことを特徴とする、上記方法。
- 3) (主成分の)オレアノール酸およびマスリン酸および副生成物を得る請求項1または2に記載の方法において、請求項1または2に記載の抽出段階で得られた部分的に希釈されていてもよい濃縮抽出物から沈殿したオレアノール酸およびマスリン酸を、デンカンテーションおよび/または濾過および/または遠心分離によってできるだけ十分に分離し、オレイン酸および付随物質をヘキサン、他の極性溶剤またはそれらの混合物で熱間-または冷間洗浄し、得られる生成物を場合によっては漂白することを特徴とする上記方法。
- 4) ---請求項1に記載の物質からオレアノール酸および(主成分の)マスリン酸および副生成物を得る方法において、請求項2に記載の方法からの残留物を新たに好ましくは醋酸エチル、他の極性溶剤またはそれらの混合物で、“超臨界”条件のもとでの液化ガスでの抽出を含め、好ましくは加熱下に抽出すること

を特徴とする、上記方法。

5) オレアノール酸および(主成分の)マスリン酸および副生成物を得る請求項1～4のいずれか一つに記載の方法において、請求項4で得られる好ましくは乾燥した抽出物をメタノール、他の溶剤またはそれらの混合物でまたは、オレアノール酸およびマスリン酸を含めこれに付随する抽出成分を有利に溶解できる臨界条件下に液化ガスで処理する、上記方法。

6) オレアノール酸および(主成分の)マスリン酸および副生成物を得る請求項1～5のいずれか一つに記載の方法において、請求項5で得られそして実質的に(主成分の)マスリン酸およびオレアノール酸より成る不溶部分を好ましくはヘキサン、上記酸に付随する脂肪物質を溶解することのできる他の溶剤またはそれらの混合物で処理する、上記方法。

7) オレアノール酸およびマスリン酸および副生成物を得る請求項1～6のいずれか一つに記載の方法において、請求項5で得られる溶液の濃縮物を、異なるpH値で水で予備洗浄してまたはせずに、ソーダまたは他の塩基で塩基性にした水で熱間一または冷間処理し、遠心分離および/または濾過によって溶液から分離することができる(主成分の)マスリン酸塩およびオレアノール酸塩の固体残留物を得、この生成物を場合によっては漂白処理に付することを特徴とする上記方法。

8) (主成分の)マスリン酸およびオレアノール酸および副生成物を得る請求項1～7のいずれか一つに記載の方法において、オレアノール酸塩およびマスリン酸塩を酸性媒体および/または酸性物質、好ましくは鉄酸で処理して、遊離酸を得、次いで場合によっては漂白工程を実施することを特徴とする、上記方法。

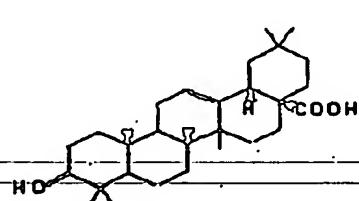
【発明の詳細な説明】

オリーブ摩碎副生成物に含まれるオレアノール酸およびマスリン酸を工業的に回収する方法

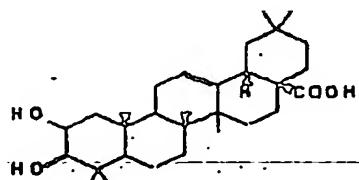
オリーブの木の栽培は殆ど世界中の温暖な国において非常に重要である。この木は第一にオリーブ油のために使用されており、スペインは今日、100万メートルトンを超える生産国である。古典的なオリーブの摩碎法およびオリーブ油の製法はいわゆる連続一および不連続“三段階(three-phase)”法の両方より成る。油の他にこれらの方ではオイルフット(oil-foot)、水が添加されたかまたは添加されてないオリーブ水性留分、および油を追加的に回収するために一般に抽出される色々な種類の圧縮されたオリーブかすとして副生成物が生じる。三段階法の他にいわゆる“二段階法”も使用される。この方法では、油の他に、パルプ残留物および必ずではないが、プラント水と混合されたオリーブストーン(olive stone)を含む塊状物が得られ、これが“オイルフットかす”として知られ始めている副生成物を生じる。

オレアノール酸(3- β -ヒドロキシ-28-カルボキシオレイン酸)は植物界のいたるところに分布しているトリテルペン酸である。米国農学植物化学データーベース部門(The United States Department of Agriculture Phytochemical database; インターネットアドレス <http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb>)は殆ど100種の植物、中でも *Olea europaea* 中に存在することが確かに記述されており、更に沢山の証明済み植物活性〔(墮胎性、抗う蝕性(anticariogenic)、受精阻止性(antifertility)、肝細胞抗毒性(antihepatotoxic)、抗炎症性、抗肉腫性(antisarcomic)、抗ガン性、強心性、利尿性、肝臓保護性(hepatoprotective)および子宮収縮性)〕も記載されている。この酸およびそのグリコシドの潜在的な植物活性に関して連載的に公表されている。白血病細胞の増殖の抑制剤(Essady, D., Najid, A. Simo, A., Denizot, Y., Chulia, A. J., および Delage, C.,; "Mediators of Inflammation" (1991) 3, 181-184]、低血糖症の抑制剤(Yoshikawa, M., Matsuda, H., Harada, E., Mukarami, T., Wariishi, N., Marakami, N. および Yamahara, J., "Chemical & Pharam

"aceutical Bulletin" (1994) 42, 1354-1356)、抗腫瘍性 (antitumoral) (Ohigashi, H., Mukarami, A., および Koshimizu, K. "ACS Symposium Series" (1994) 547, 2 51-261)、過敏症ショックでの拮抗作用発生物 (Zhang, L.R. および Ma, T.X.; "Acta Pharmacologica Sinica" (1995) 16, 527-530)、肝臓保護剤 (Lin, Y.P., Parkinson, A. および Klaasen, C.D.; "Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics" (1995) 275, 768-774; Connolly, J.D. および Hill, R.A. "Natural Product Reports" 12, 609-638 (1995) および 抗炎症剤 (Recio, M.D., Griner, R.M., Manez, S. And Rios, J.L.; "Planta Medica" (1995) 61, 182-185) としての活性が事実研究されて来た。オレアノール酸の薬学的活性の特異な評価が公表されている (Liu, J. "Journal of Ethnopharmacology" (1995) 49, 57-68)。クラタエゴリック酸 (crataegolic acid) とも称されるマスリン (Maslinic) 酸 ($2-\alpha$ 、 $3-\beta$ -ジヒドロキシ- $2',8$ -カルボキシオレアネン酸) は自然界での分布が遙かに少なく、10種ぐらいの植物に認められる (インターネットアドレス <http://probe.nalusda.gov:8300/cgi-bin/browse/phytochemdb>)。不足しているために広範囲に研究出来なかったにもかかわらず、抗ヒスタミン および 抗炎症活性を有することは公知である。Olea europaea の果物の表面のワックス部分からオレアノール酸およびマスリン酸を、クロロホルムで予め洗浄したオリーブからメタノール抽出することによって分離することが開示されている (Bianchi, G., Pozzi, N., および Vlahov, G.; "Phytochemistry" (1994) 37, 205-207)。この種の酸の分離は高速向流クロマトグラフィー (HSCCC) によって説明されている (Du, Q.Z., Xiong, X.P. および Ito, Y., "Journal of Liquid Chromatography" (1995) 18, 1997-2004)。



オレアノール酸



マスリン酸

発明の説明

古典的な圧縮法の“三段階”法によって得られる圧縮されたオリーブかすであるオイルケーキ状物——いわゆる“二段階”系から得られるオイルフットくず(oil-foot refuse)、および広義では、全オリーブまたはその元の皮残さを含めたその一部の加工段階からのあらゆる残留物——を、それらが含む油を回収する続く加工段階を行いまたは行わずに、予備洗浄を行いまたは行わずに、圧縮されたオリーブ残さの加工工業の通例の方法でのヘキサン(または他のあらゆる溶剤または溶剤混合物)で抽出するために適当な湿分含有量が達成されるまで、適当に乾燥し、非極性溶剤(好ましくはヘキサン)で抽出し、溶剤を除いた後に良く知られた圧縮オリーブかす油を得る。こうして得られるかまたはヘキサンで希釈された油を残留物から除きそして濾過および/または遠心分離によってこの油から分離できる白色の沈殿物が生成し、非極性溶剤(好ましくはヘキサン)での適当な洗浄の後にオレアノール酸が得られる半固体生成物を得、これを所望の様に漂白処理してもよい。上述の通り既に抽出処理した“圧縮されたオリーブ残留物”を“超臨界”状態のもとでの液化ガスを含めたより極性の溶剤、好ましくは醋酸エチルで新たに抽出処理する。問題の抽出物の容積は好ましくは乾燥状態まで溶剤を除くことによって減少させる。こうして得られる抽出物を醋酸エチルよりも更に極性の溶剤、好ましくはメタノールにてまたは“臨界条件”的もとでの液化ガスにて処理し、溶液または、遠心分離および/または濾過によって該溶液から分離される粘性の沈殿物を得る。この方法は以下に記載する通り、この操作で得られるマスリン酸の量を増やすために繰り返してもよい。メタノールまたは液化ガスに不溶のこの生成物を次いで非極性溶剤、好ましくはヘキサンそして好ましくは加熱下に洗浄し、マスリン酸である不溶の固体を得る。一方では逆の極性処理を実施し、その場合には溶解される生成物は主としてマスリン酸である。上述の醋酸エチル極性溶液を、場合によって乾燥させるまで濃縮してもよくそして、異なるpH値での水での処理または連続処理に付す。塩基性水での処理の後に、洗浄水から分離される沈殿物、即ちマスリン酸塩が残る。酸性媒体、好ましくは鉱酸またはあらゆる種類のイオン交換処理でこの塩を続いて処理して遊離のマスリン酸を得る。

図1の説明

生成物1：あらゆる方法によって（オリーブの皮および付随物質を含む）オリーブの摩碎物から工業用物質を得る。

操作（A）：ここでは好ましくは水を除き、生成物1の水含有量を15%より少なくする（生成物2）。回転炉または交流乾燥を使用するのが有利である。例えば350kgのこの生成物2を始めに得る。

操作（B）：生成物2のヘキサン抽出。これは連続的でもまたは不連続的でもよい。この操作で元の350kgから約21kg（約6%）が回収される。

操作（C）：ヘキサン不溶性固体（生成物5）の醋酸エチル抽出を上記の操作（B）から得る。この操作で元の生成物から更に約24kgが回収される（生成物2を基準として約6.5%）。

操作（D）：生成物3の部分濃縮および濾過および／または遠心分離による沈殿物の分離、または生成物3の十分な濃縮および続くヘキサンでの希釀、沈殿する（溶剤、例えばヘキサンで繰り返し洗浄されていてもよい）固体の濾過および／または遠心分離。溶剤が除かれた時に、油（19.5kg）（生成物4）およびオレアノール酸（生成物2の0.07%）が得られる溶液がこうして得られる。これを漂白工程に付す。

操作（E）：操作（C）からの醋酸エチル抽出物の濃縮および得られる固体（24kg）のメタノール（75kg）での洗浄、得られる溶液（生成物7）の不溶性固体（生成物8）からの濾過および／または遠心分離による分離。

（F）：（E）に記載した操作からの固体（8）をヘキサンで熱間洗浄し、得られる溶液（10）から濾過および／または遠心分離によって残留固体（マスリン酸、生成物2を基準として0.04～0.2%）の分離。

（G）：操作（E）から得たメタノール溶液の濃縮および得られる固体の、好ましくは加熱下での水（75kg）での洗浄、不溶性の部分（生成物11）の溶液（12）からの濾過および／または遠心分離による分離。

（H）：塩基性水（75kg）、例えば5%の水酸化ナトリウムでの処理で、溶液（14）を得、そして該溶液から濾過および／または遠心分離によって分離される殆ど不溶のマスリン酸塩性の物質。マスリン酸は次いで該塩を酸性媒体中

で処理することによって遊離される（固体2を基準として0.15～0.35%）。

本発明の方法の有利な実施例を以下に説明する。

実施例：

いわゆる“二段階”法による摩碎オリーブから得られる1,000kgのオイルフットくずを最初に準備する。このオイルフットくずを、目的に合わせて改造した回転炉で乾燥し、約8%の湿分が達成されるまでそれが含む水の殆どを除き、それによって有利に使用され得る約350kgの材料を得る。これを次いで圧縮されたオリーブかすの加工工業の通例の設備においてヘキサンで抽出処理する。ヘキサン抽出物は約6重量%の非揮発性物質を含有しており、その殆どは品質、性質および加工された圧縮オリーブかすの“履歴”に依存して非常に変化する割合のいわゆる圧縮されたオリーブかす油（5～6%）より成る。こうして得られる油（約21kg）を50リットルのヘキサンで希釈しそして、遠心分離によって溶液から分離する白色沈殿物が生ずるまで室温で放置する。こうして得られる固体を連続的にヘキサンで洗浄する。その際にこの固体は遠心分離によって溶液から各段階で分離する。得られる溶液を乾燥しそして残留物を新しいヘキサンでの洗浄処理に付す。得られる固体を、少なくとも85%の純度の0.1%のオレアノール酸に近い収率である得られた最初の固体に添加し、マスリン酸は脂肪残留物と一緒に主な付随物質（約10%）である。オレアノール酸をクロロホルム／メタノール混合物に溶解した後に、活性炭を添加し、そして数分煮沸し、濾過または遠心分離しそして乾燥して約350g（乾燥オイルフットくずを基準として0.07～0.1%）の、85%を超える純度の白色のオレアノール酸を得る（核磁気共鳴およびクロマトグラフィーによって検査した）。ヘキサンで既に抽出処理された固体オイルフットくず（約325kgが残っている）を、ヘキサン抽出のための上述の設備で醋酸エチル抽出を行う。こうして得られる醋酸エチル溶液を約50%の固体分含有量まで減圧濃縮しそして最後に噴霧乾燥して乾燥させ、約24kgの固体物質を得、これを150Lの沸騰メタノールで処理し、冷却放置しそして遠心分離する。得られる固体をヘキサンで熱間洗浄し、遠心分離によってヘキサン溶液から分離される洗浄された約150gの固体を得る

。この固体をクロロホルム／メタノール混合物に溶解しそして活性炭で漂白し、それによって約130g（加工される乾燥オイルフットくずを基準として0.04%）の白色の固体が得られ、このものは10%のオレアノール酸を随伴する85%を超える純度のマスリン酸である。メタノールに溶解する物質を、醋酸エチル抽出のための上記の方法によって乾燥させ、この処理をメタノールで繰り返し、約0.2%の収率がこの方法段階で達成されるまで、新しいロットのマスリン酸を得る。メタノールに溶解する物質（約23kg）を、醋酸エチル抽出のための上述の方法を組み合わせることによって乾燥し、次いで75Lの沸騰水で処理し、不溶性物質を水溶液から遠心分離によって分離する。更に熱処理を5%の重炭酸ナトリウム含有量の同じ容量の水で後から実施し、同様に残留固体から重炭酸塩水溶液を分離する。次いで不溶性部分を5%の水酸化ナトリウム含有量の同じ容量の水で処理する。水性相を、最初の乾燥オイルフットくずを基準として0.2～0.5重量%（前の段階で得られるマスリン酸の収率にも依存している）であるマスリン酸ナトリウムを主として含むの褐色に着色した固体物質から分離する。予め摩碎されたこの固体を塩酸含有の酸性の水で続いて熱間処理することで遊離の酸が得られ、これを遠心分離によって分離しそして前述の様に活性炭で漂白する。マスリン酸を得る二つの相は、収率がオレアノール酸と一緒に、オリーブの種類、その熟成度、オイルフットくずの“履歴”に依存しておよび元のオイルフットくずを形成する全ての物質（パルプおよびストーン）の重量比に殊に依存しているにもかかわらず、85%を超える純度で約0.5%である。

【図1】

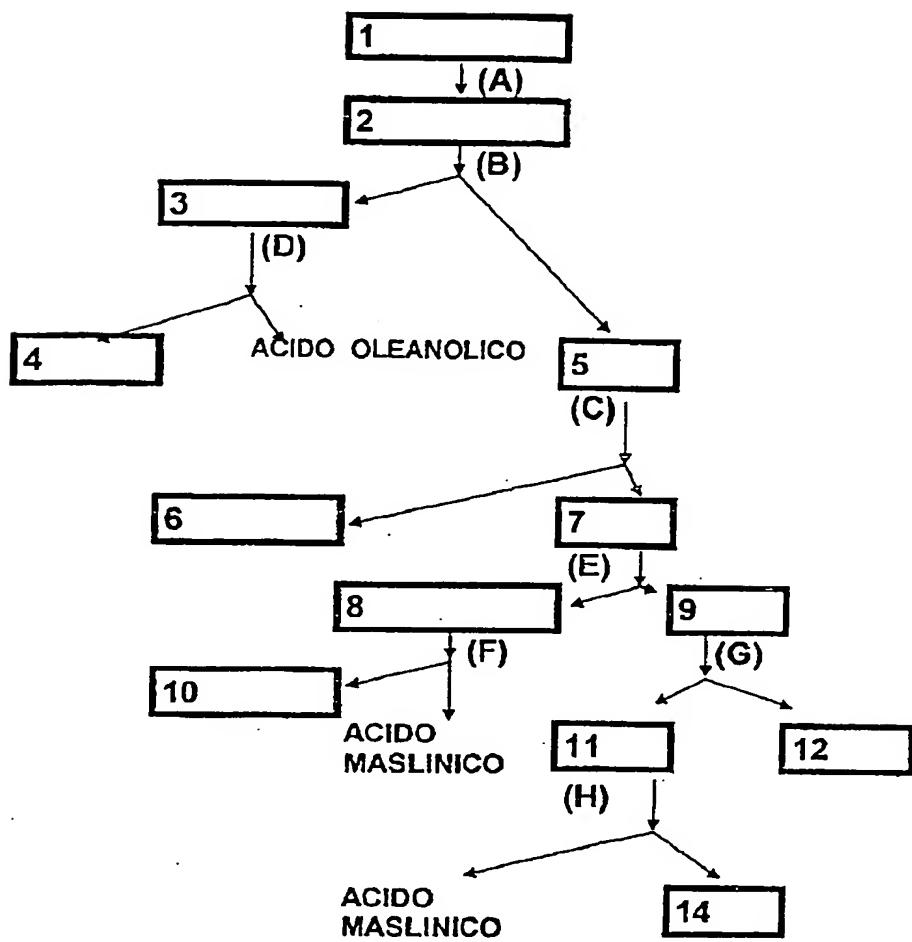


FIGURA 1

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 97/00190

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC6 B01D11/00, C07C62/32, C11B13/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC6 B01D, C07C, C11B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CIBEPAT, EPODOC, MPIL, CAS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VAZQUEZ RONCERO, et al.. "Triterpenic acids from the olive tree". 1969, Grasas y Aceites, vol.20(3) pages.: 133-138, the whole document, in particular pages.: 134-136, "Parte Experimental".	1-8
X	EP 093520 A (NORISTAN LIMITED) 09.11.83 pages.:11 and 12, "example 1".	1-8
A	FREGAN, M. Et al.. "Minor lipids of the olive drupe at different stages of ripening, 1986, Riv. Ital. Sostanze Grasse, vol. 63(7), pages.:393-398.	
A	LANZANI, A. Et al., "Olive marc transformation and recovery technology of byproducts for practical applications. Note I", 1985, Riv. Ital. Sostanze Grasse, vol.62(11), pages.:597-604.	
A	BIANCHI, G. Et al., "Pentacyclic triterpene acids in olives", 1994, Phytochemistry, vol.37, pages.:205-207	
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 6-November-1997-(06.11.97)		Date of mailing of the international search report 11-November-1997-(11.11.97)
Name and mailing address of the ISA/ S.P.T.O Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members			International Application No PCT/ES 97/00190
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 093520 A	09.11.83	AU 8313955 A JP 58201713 A ZA 8302912 A DE 3366910 A US 4752606 A	03.11.83 24.11.83 26.10.84 20.01.87 21.06.88